

Title	Distinct spectrum of microRNA expression in forensically relevant body fluids and probabilistic discriminant approach(Abstract_要旨)
Author(s)	Fujimoto, Shuntaro
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2020-03-23
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k22378
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（医科学）	氏 名	藤 本 駿 太 朗
論文題目	Distinct spectrum of microRNA expression in forensically relevant body fluids and probabilistic discriminant approach （法医学分野で扱われる体液試料中の microRNA の発現多様性と確率的識別法の検討）		
（論文内容の要旨）			
<p>法医学分野において、犯行現場に遺された人体試料の体液の種類が明らかになると、その試料の証拠価値を高め、事件の解決に役立つ場合が多い。例えば、ある人物によって犯行現場に遺された試料が唾液であれば会話などで偶然に遺留されたことも考えられるが、精液であればその人物が性犯罪に関与したことを強く疑わせる。しかしながら、わが国で現在用いられている酵素活性などを基にした体液識別検査では、感度、特異度が共に低く、検査に必要とする試料の量が多いため貴重な試料を消費してしまう。</p> <p>microRNA は体液によって発現している種類や量が異なり、体液中のエクソソームなどに存在するため外的環境による変性の影響が小さく、一度の検査で複数種類の体液を識別できる利点がある。このため法医学分野で扱われる試料に応用できると考えられるが、実務に適した microRNA による確率的な体液識別法は確立していない。本研究では静脈血、唾液、精液、膣分泌液といった体液試料について、試料中の microRNA を定量することで識別できるかを検討した。</p> <p>各体液は、試料採取の同意の得られた総勢 46 名のボランティアから静脈血（11 試料）、唾液（12 試料）、精液（11 試料）、膣分泌液（12 試料）をそれぞれ採取した。また、表皮の混入や精液中の精子の性状の違い、膣分泌液の性周期の時期の違いの影響を調べるため、表皮、精子無力症精液、無精子精液、卵胞期と黄体期の膣分泌液をそれぞれ採取した（各 5 試料）。各体液から全 RNA を抽出し、十分な収量が確認された試料について、定量PCRにより標的microRNAを定量した。標的としたmicroRNAは過去の研究を参考に 15 種類選択した。また独自の検討で有効性が証明された 3 種類の RNA を定量の標準となるリファレンス RNA とした。計測された定量値は、部分最小二乗判別分析とベイズの定理に基づいて、各体液らしさの指標（肯定確率）に変換して体液の識別を行った。</p> <p>定量 PCR の結果、静脈血では miR-144-3p と miR-451a-5p、精液では miR-888-5p と miR-891a-5p が比較的高発現しており、これらの microRNA を指標として静脈血と精液を正しく同定できると考えられた。一方、唾液では miR-203a-3p と miR-223-3p、膣分泌液では miR-1260b が比較的高発現していたが、他の体液においても同程度発現していることがあるため、定性的に判断することが困難であった。</p> <p>次に、表皮における上記の 7 種類の microRNA の発現を調べたところ、miR-451a-5p、miR-203a-3p、miR-223-3p、miR-1260b が検出された。従って、表皮が試料に混入すると、これらの microRNA の発現量が変化し、体液の識別に影響すると考えられた。精子無力症、及び無精子精液におけるこれらの microRNA の発現量は健常精液と殆ど変わらず、統計学的に有意な差はみられなかった。また、膣分泌液の月経周期における違いも、卵胞期と黄体期で今回調べた microRNA の発現量に大きな差はみられなかった。</p>			

各体液中の microRNA の定量値を用いて、部分最小二乗判別分析により導出される識別に最適な潜在変数を抽出したところ、3 つの変数を用いることが 4 種類の体液の識別に最適であると判断された。これらの潜在変数を用いて体液試料の肯定確率を算出すると、いずれの試料においても正しい体液に関する肯定確率が最も大きくなり、殆ど全ての試料で 90%を上回った。

以上のことから、7 種類の microRNA を定量することで静脈血、唾液、精液、膣分泌液を確率的に識別できることが示唆された。本法の普及により体液識別検査の精度が格段に向上し、法医学分野で扱われる試料の証拠価値を高めることが期待される。

（論文審査の結果の要旨）

法医学分野において、体液識別検査は犯行現場試料が遺留された経緯を推定するために極めて重要である。しかし、現行法では感度、特異度共に低く、複数の体液検査を同時に行えないといった問題点がある。本研究では microRNA を用いて確率的に体液を識別することで、実践的で高精度な体液識別法を構築した。

各体液中の 7 種類の microRNA を定量した結果、静脈血では miR-144-3p と miR-451a-5p、精液では miR-888-5p と miR-891a-5p が特異的に発現していた。一方、唾液では miR-203a-3p と miR-223-3p、膣分泌液では miR-1260b が比較的多く発現していたが、他の体液でも検出されたため定性的な識別は困難であった。また、これらの microRNA の一部は表皮中でも検出されたため、表皮片の混入には注意が必要であった。一方で、精液の性状の違いや膣分泌液の性周期の違いは体液識別に殆ど影響しないと判断された。これらの microRNA の発現量を基にして部分最小二乗判別分析を用いた体液の確率的識別を試みたところ、いずれの試料においても正しい体液に関する肯定確率が最大となり、その確率は殆ど全ての試料で 90%を上回った。

以上の研究は法医学分野の体液識別検査の発展に貢献し、また、法廷での犯罪現場試料の証拠価値の向上に寄与することが期待される。

したがって、本論文は博士（ 医科学 ）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 1 月 2 4 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。